

## Induktion von Blutgefäßwachstum: Eine einzigartige Eigenschaft von *Bartonella henselae*

Christian Eberhardt, Hanna Hartmann und Volkhard A. J. Kempf

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Universitätsklinikum Tübingen

► Das „*new emerging pathogen*“ *Bartonella henselae* gewinnt zunehmend an medizinischer Bedeutung. Die erstmals 1991 beschriebenen Gram-negativen Bakterien können sowohl innerhalb als auch außerhalb von Wirtszellen überleben. Etwa 15 Prozent der Mitteleuropäer haben *Bartonella*-spezifische Antikörper, was auf eine zurückliegende Infektion schließen lässt.

*B. henselae* verursacht bei immunkompetenten Personen die durch Katzen übertragene „Katzenkratzkrankheit“ (KKK), eine meist selbstlimitierende Lymphknotenentzündung (Lymphadenitis). Bei immunsupprimierten Patienten (z. B. AIDS-Patienten) kann es hingegen zu tumorähnlichen Gefäßneubildungen kommen, die als „Bazilläre Angiomatose“ (BA) bei Befall der Haut und „Peliosis hepatis“ (PH) bei Befall der Leber bezeichnet werden. *Bartonella* spp. sind die bislang einzigen bekannten bakteriellen Pathogene, die Angiogenese auslösen können [1].

Als Angiogenese bezeichnet man einen mehrstufigen Prozess, bei dem durch Sprossung von Kapillaren neue Blutgefäße entstehen. Krankhaftes Gefäßwachstum ist charakteristisch für bösartige Tumore, kommt jedoch auch bei entzündlichen Erkrankungen vor [2]. Obwohl BA und PH keine malignen Tumorerkrankungen darstellen, sind sie durch das ausgeprägte Wachstum von Blutkapillaren gekennzeichnet (Abb. 1). BA und PH sind das Resultat einer chronischen *B. henselae*-Infektion, da eine antibiotische Therapie zur kompletten Rückbildung der Läsionen führt.

### Pathogenitätsfaktoren von *B. henselae*

Mehrere potenzielle Pathogenitätsfaktoren von *B. henselae* wurden beschrieben, jedoch nur zwei bislang genauer charakterisiert: das *Bartonella*-Adhäsion A (BadA) [3] und das VirB/VirD4-TypIV-Sekretionssystem (TIVSS) [4].

#### *Bartonella*-Adhäsion A (BadA)

BadA ist ein ungewöhnliches und mit 340 kDa außerordentlich großes, multifunktionelles Außenmembranprotein von *B. henselae* (Abb. 2). Es gehört zur Klasse der nicht-

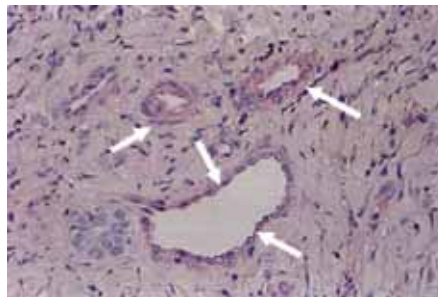


Abb. 1: Bazilläre Angiomatose (BA), Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Sichtbar ist das ausgeprägte Gefäßwachstum (Pfeile) im Biopsat eines an BA erkrankten AIDS-Patienten. Die VEGF-Expression an den proliferierenden Gefäßen ist hier mit einem VEGF-spezifischen Antikörper (rot) dargestellt (Abbildung entnommen aus [10]).

fimbriellen Adhäsine [5], bindet an extrazelluläre Matrixkomponenten (z. B. Fibronectin) und vermittelt die Bindung der Bakterien an Endothelzellen (ECs).

BadA kommt eine entscheidende Bedeutung in der angiogenetischen Umprogrammierung infizierter Zellen zu. Nur BadA-exprimierende Bartonellen sind in der Lage, den Transkriptionsfaktor *hypoxia-inducible factor* (HIF)-1, den „Hauptschalter“ des Angiogenese-Programms, zu aktivieren und eine nachfolgende, HIF-1-abhängige Wirtszellantwort auszulösen. Ob BadA selbst proangiogenetische Eigenschaften besitzt oder ob es in roter Linie der Adhäsion der Bakterien an Wirtszellen dient und so die molekulare Basis für weitere Interaktionen zwischen dem Bakterium und der Zelle darstellt (z. B. über das TIVSS), wird zurzeit untersucht. Darüber hinaus ist BadA ein aussichtsreicher Kandidat für die Entwicklung neuer serologischer Tests für die Diagnostik von *Bartonella*-Infektionen beim Menschen und könnte zudem als möglicher Impfstoff (etwa zur Vakzinierung von Katzen, dem natürlichen Wirt von *B. henselae*) dienen.

#### VirB/VirD4-TypIV-Sekretionssystem

Verschiedene pathogene Bakterien nutzen TypIV-Sekretionssysteme (TIVSS), um bakterielle Effektormoleküle (Proteine, Transfer-DNA) in Wirtszellen zu injizieren. Das VirB/VirD4-TIVSS von *B. henselae* ist ein

Mehrkomponentensystem, das aus einem nadelartigen Pilus besteht, der den Kontakt zur Wirtszelle vermittelt, sowie einem Proteinkomplex, der eine Pore durch die bakterielle Zellhülle bildet [6].

Durch Mutagenese von *virB4* und funktionelle Analyse der Mutante zeigte sich, dass dieses TIVSS für viele Phänomene im Infektionsverlauf von ECs (wie Apoptoseinhibition, Aktivierung NF- $\kappa$ B-regulierter Gene) verantwortlich ist [4]. Kürzlich wurden die über das TIVSS translozierten Effektorproteine [*Bartonella-translocated effector proteins* (Beps) A-G] identifiziert [7].

### Wie reagieren Wirtszellen auf eine *B. henselae*-Infektion?

Gegenwärtig geht man davon aus, dass sich mindestens die folgenden drei Mechanismen in der Induktion von Gefäßwachstumsphänomenen durch *B. henselae* überlagern (Abb. 3):

#### (a) Direkte Stimulation der Endothelzellproliferation durch *B. henselae*

*B. henselae* stimuliert direkt oder über sekretierte Produkte die Proliferation von ECs [8]. Als auslösender Faktor werden Proteine vermutet; es ist jedoch bislang nicht gelungen, diese(s) Protein(e) zu identifizieren.

#### (b) Zytokin-vermittelte Endothelzellproliferation

Eine *B. henselae*-Infektion resultiert in einer Aktivierung von HIF-1 in Wirtszellen (z. B. Epithelzellen) [9]. HIF-1 reguliert unter anderem die Sekretion von „*vascular endothelial growth factor*“ (VEGF), dem wichtigsten mitogenen Zytokin für ECs, und weiterer Zytokine, die wahrscheinlich in der Auslösung der BA und PH eine wesentliche Rol-

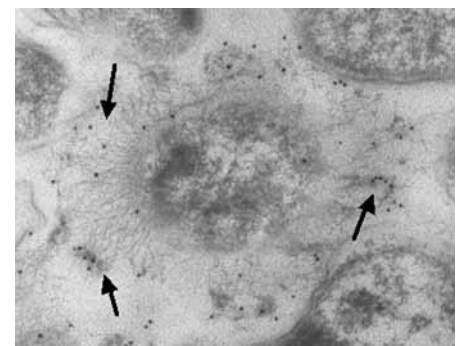
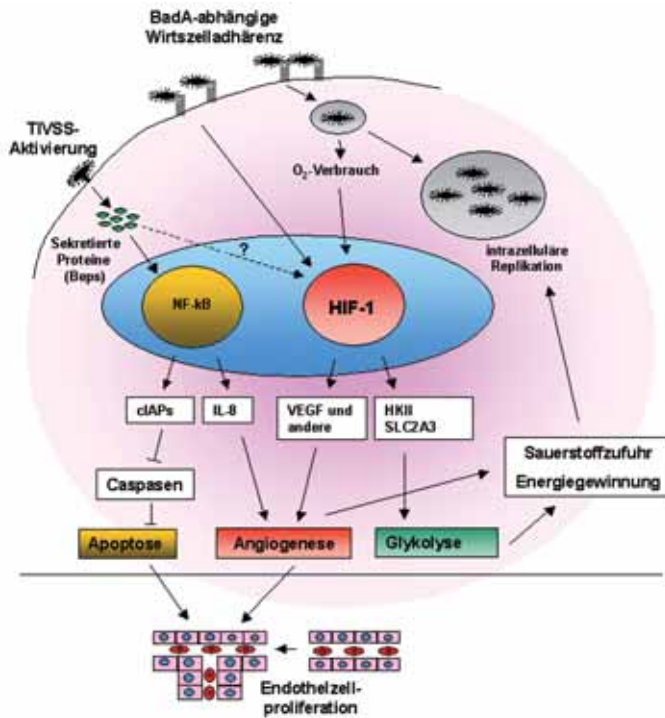


Abb. 2: Immunelektronenmikroskopischer Nachweis von BadA. Das nicht-fimbrielle, „haarig“ erscheinende Adhäsion von *B. henselae* (dargestellt durch Immunogold-Färbung, Pfeile) vermittelt die Bindung des Bakteriums an extrazelluläre Matrixproteine und Endothelzellen und ist notwendig für die Auslösung einer HIF-1-regulierten Wirtszellantwort.



**Abb. 3: Hypothetisches Modell einer *B. henselae*-Infektion.** *B. henselae* hemmt die Wirtszellapoptose (möglicherweise über die Aktivierung von NF- $\kappa$ B) und schafft sich damit die Voraussetzungen für ein Überleben in der Wirtszelle. Diese intrazelluläre Anwesenheit könnte durch einen erhöhten Sauerstoffverbrauch der Wirtszelle die Aktivierung des Transkriptionsfaktors HIF-1 verursachen und somit die Angiogenese durch Sekretion von angiogenetischen Wachstumsfaktoren (z. B. VEGF) auslösen. Die NF- $\kappa$ B-regulierte IL-8-Sekretion trägt ebenfalls zur Angiogenese bei. Zudem induziert HIF-1 Gene, die den Glukosemetabolismus erhöhen [Hexokinase (HK) und Glukosetransporter (SLC2A3)], um den gesteigerten metabolischen Bedarf der infizierten Wirtszelle zu decken. Die somit verbesserte Energie- und Sauerstoffversorgung sollte es *B. henselae* ermöglichen, in der Wirtszelle zu überleben.

le spielen<sup>[10]</sup>. Zudem reguliert HIF-1 Gene, die unter anderem über den Glukosestoffwechsel an der zellulären Energiegewinnung beteiligt sind<sup>[9]</sup>. Ökologisch betrachtet könnte die aus diesem HIF-1-gesteuerten Genprogramm resultierende tumoröse Gefäßneubildung für *B. henselae* der Sicherung des eigenen Habitats „Wirtszelle“ dienen<sup>[11]</sup>.

### (c) Hemmung der Wirtszellapoptose

Die Verhinderung der Apoptose von ECs scheint ein weiterer Mechanismus in der Entstehung *Bartonella*-induzierter Vaskuloproliferationen zu sein. Die Apoptoseinhibition wird durch Hemmung der Caspase-3 vermittelt, einem entscheidenden Enzym in der Apoptosekaskade<sup>[12]</sup>. Es liegt nahe, dass Substrate des TIVSS (vermutlich die oben genannten Beps) wesentlich an der Inhibition der Apoptose beteiligt sind<sup>[7]</sup>.

Weiterhin wurde gezeigt, dass *B. henselae* die Apoptose in Monozyten verhindert<sup>[13]</sup>. Hier könnte die Aktivierung von NF- $\kappa$ B [möglicherweise über die Induktion der antiapoptotischen Proteine *cellular inhibitor of apoptosis* (cIAPs)] durch *B. henselae* eine entscheidende Rolle spielen.

### Bakteriell induzierte Angiogenese: Ausgangspunkt für neue Therapieansätze?

*Bartonella* spp. sind die einzigen Bakterien, die eine (krankhafte) Gefäßneubildung (BA, PH) beim Menschen auslösen können. Die zugrunde liegenden Mechanismen dieser ungewöhnlichen Krankheitsbilder sind erst teilweise bekannt. Die Erkenntnis, wie Bakterien die Gefäßproliferationen auslösen können, wird wesentlich zum tieferen Verständnis von Infektions-, Entzündungs- und Angiogenese Prozessen beitragen. Sollte sich in Zukunft herausstellen, dass einzelne bakterielle Bestandteile angiogenetische Wirksamkeit besitzen, könnte der Einsatz dieser Substanzen neue therapeutische Behandlungskonzepte, unter anderem bei chronisch ischämischen Erkrankungen (Durchblutungsstörungen), liefern.

### Danksagung

Die Arbeiten von V. A. J. Kempf werden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, das Universitätsklinikum Tübingen (fortune-Programm) sowie das Land Baden-Württemberg gefördert. Die Autoren be-

danken sich bei Ingo B. Autenrieth für die kontinuierliche Unterstützung.

### Literatur

- [1] Anderson, B. E. & Neuman, M. A. (1997): *Bartonella* spp. as emerging human pathogens. *Clin. Microbiol. Rev.* 10: 203–219.
- [2] Carmeliet, P. & Jain, R. K. (2000): Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 407: 249–257.
- [3] Riess, T. et al. (2004): *Bartonella* adhesin A mediates a proangiogenic host cell response. *J. Exp. Med.* 200: 1267–1278.
- [4] Schmid, M. C. et al. (2004): The VirB type IV secretion system of *Bartonella henselae* mediates invasion, proinflammatory activation and antiapoptotic protection of endothelial cells. *Mol. Microbiol.* 52: 81–92.
- [5] Hoiczky, E., Roggenkamp, A., Reichenbecher, M., Lupas, A. & Heesemann, J. (2000): Structure and sequence analysis of *Yersinia* YadA and *Moraxella* UspAs reveal a novel class of adhesins. *EMBO J.* 19: 5989–5999.
- [6] Dehio, C. (2005): *Bartonella*-host-cell interactions and vascular tumour formation. *Nat. Rev. Microbiol.* 3: 621–631.
- [7] Schüle, R. et al. (2005): A bipartite signal mediates the transfer of type IV secretion substrates of *Bartonella henselae* into human cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 856–861.
- [8] Conley, T., Slater, L. & Hamilton, K. (1994): *Rochalimaea* species stimulate human endothelial cell proliferation and migration *in vitro*. *J. Lab. Clin. Med.* 124: 521–528.
- [9] Kempf, V. A. et al. (2005): Activation of hypoxia-inducible factor-1 in bacillary angiomatosis: evidence for a role of hypoxia-inducible factor-1 in bacterial infections. *Circulation* 111: 1054–1062.
- [10] Kempf, V. A. et al. (2001): Evidence of a leading role for VEGF in *Bartonella henselae*-induced endothelial cell proliferations. *Cell Microbiol.* 3: 623–632.
- [11] Kempf, V. A., Hitziger, N., Riess, T. & Autenrieth, I. B. (2002): Do plant and human pathogens have a common pathogenicity strategy? *Trends Microbiol.* 10: 269–275.
- [12] Kirby, J. E. & Nekorchuk, D. M. (2002): *Bartonella*-associated endothelial proliferation depends on inhibition of apoptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 4656–4661.
- [13] Kempf, V. A. et al. (2005): *Bartonella henselae* inhibits apoptosis in Mono Mac 6 cells. *Cell Microbiol.* 7: 91–104.

### Korrespondenzadresse:

Dr. med. Volkhard A. J. Kempf  
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene  
Elfriede-Aulhorn-Str. 6  
D-72076 Tübingen  
Tel.: 07071-2981526  
Fax: 07071-295440  
volkhard.kempf@med.uni-tuebingen.de